

Prezentare de caz - o formă rară de leucemie acută mieloidă la copii

Case report – rare type of acute myeloid leukemia in children

Anca Bacărea^{1*}, Bogdana Rodica Dorcioman², Eniko Molnar², Maria Despina Baghiu¹, Minodora Dobreanu¹

4. Universitatea de Medicină și Farmacie Tg. Mureș

5. Spitalul Clinic Județean de Urgență Mureș

Rezumat

Scopul acestei lucrări este acela de a prezenta un caz de leucemie acută mieloidă (LAM) - tipul FAB M7, identificată la un copil și de a arăta rolul imunofenotipării în stabilirea diagnosticului. Copilul B. A. în vârstă de 1 an este internat în Clinica de Pediatrie I, unde pe baza examenului clinic și a examinărilor paraclinice se ridică suspiciunea unei hemopatii maligne. S-a impus efectuarea examenului imunofenotipic pentru stabilirea diagnosticului. Imunofenotiparea s-a efectuat din MO, iar diagnosticul stabilit în urma determinării a fost LAM - M7. Analiza citogenetică a exclus un sindrom Down. Citometria de flux este obligatorie pentru stabilirea diagnosticului. Prognosticul bolii este nefavorabil prin subtipul FAB – M7, prin vârsta de debut și răspunsul nefavorabil la tratament.

Cuvinte cheie: LAM, imunofenotipare, prognostic

Abstract

The purpose of this work is to present a case of acute myeloid leukemia (AML) – FAB type M7, identified to a child and to show the importance of immunophenotyping in diagnostic assignment. One year old child B. A. is hospitalized in 1st Pediatric Clinic, where based on clinical exam and paraclinic investigations it was put under discussion the possibility of a malignant haemopathy. Immunophenotyping was necessary for establishing diagnostic. BM immunophenotyping was done and diagnostic was put as AML – M7. Cytogenetics excluded a Down syndrome. Flow cytometry is obligatory for diagnostic assignment. Prognosis is unfavorable because of FAB subtype – M7, age of debut and unfavorable response to treatment.

Key words: AML, immunophenotyping, prognosis

*Adresa de corespondență: Anca Bacărea, Str. Gh. Marinescu Nr. 66/18, Tg. Mureș

Tel. 0744325277, E-mail: bacareaa@yahoo.com

Universitatea de Medicină și Farmacie, Departamentul Laborator-Biochimie Clinică, str. Gh. Marinescu Nr. 38

Introducere

Leucemiile acute reprezintă un grup heterogen de malignități, în care caracteristicile clinice, morfologice, imunologice și moleculare sunt foarte variate. Diferențierea între leucemia acută mieloidă (LAM) și leucemia acută limfoidă (LAL) este esențială și adesea se poate realiza numai cu ajutorul citometriei în flux. Progresele citometriei în flux: existența a noi anticorpi monoclonali, îmbunătățirea strategiilor de "gating", analiza multivariată permit utilizarea cu tot mai mare succes a acestei tehnici atât pentru diagnosticul hemopatiilor maligne, cât și pentru stabilirea prognosticului. Leucemia acută megacarioblastică – subtipul FAB M7 a fost descrisă prima dată în 1931, însă fără să se poată demonstra originea megacariocitară a celulelor blastice. Acest subtip de leucemie acută mieloidă apare de obicei în jurul vârstei de 50 de ani², și este foarte rară la copii. Uneori celulele blastice nu se pot diferenția morfologic de limfoblaștii din LAL². Cu ajutorul anticorpilor monoclonali și a citometriei în flux s-a putut demonstra clar existența acestui subtip.

Material și metodă

Copilul B. A. în vârstă de 1 an, care în urmă cu 5 luni prezintă un sindrom hemoragipar cutanat (trombocitopenie ușoară $100 \cdot 10^3/\text{mmc}$), cu stare staționară, se prezintă la Clinica de Pediatrie Nr. 1 Tg. Mureș, cu stare generală modificată, afebril, faringe discret hiperemic, paloare muco-tegumentară, peteșii generalizate, microadenopatie laterocervicală, hepatosplenomegalie moderată, tranzit intestinal prezent, fără semne de iritație meningiană. Investigațiile paraclinice la internare au arătat: leucocitoză: $27600/\text{mmc}$, anemie: Hb 8g/l, Htc 24,1 %, trombocitopenie: $14000/\text{mmc}$, serologie negativă pentru virusul hepatitic B, C, CMV, EBV și pentru *Toxoplasma gondii*, imunograma: IgA 0,27 g/l; IgG 6,21 g/l; IgM 0,48 g/l. Alte date paraclinice: acid uric 4,22 mg/l;

uree 25,9mg/dl; creatinină 0,5 mg/dl; kaliemie 3,7 mmol/l; calcemie 2,60 mmol/l; transaminaze: GOT 14U/l, GPT 30U/l; γ GT 8U/l; glicemie 118,52 mg/dl; colesterol 146,02 mg%; trigliceride 66,84 mg%; proteine totale 6,31 g/dl; albumina 4,79 g/dl; LDH 547 U/l; FAL 224 U/l; VSH 84 mm/h; proteina C reactivă – pozitivă; INR 1,04; IP 16 sec; APTT 30,7 sec. Ecografia abdominală indică o hepatosplenomegalie ușoară la prima examinare (ficat 88,4/38,4 mm, splina 73,3/20,5 mm), iar la o examinare ulterioară o hepatomegalie moderată (ficat 93,3/44,5 mm). Examenul microscopic al frotiului periferic la internare a arătat: neutrofile 20%; eozinofile 1%; bazofile 0 %; monocite 4 %; limfocite 55% din care 20% cu morfologie atipică, trombocite foarte rare, izolate, modificări ale seriei eritrocitare cu microcite de $5,6\mu$ (10-15%), rare ovalocite, schizocite, policromatofile, 6 umbre nucleare / 100 leucocite, 1 eritroblast oxifil/ 100 leucocite; reticulocite: 24%. Examenul microscopic al măduvei osoase (MO) a evidențiat o măduvă cu celularitate bogată, seria granulocitară cu aspect normal, cu toate treptele de maturare prezente, seria eritroblastică slab reprezentată, seria megacariocitară cu rare megacariocite netrombocitogene și trombocitogene de talie mică, 20% celule atipice suspecte de blaști. La colorațiile citochimice celulele suspecte de blaști au fost peroxidază negative și acid periodic Schiff (PAS) negative. A 2- examinare a măduvei osoase efectuată după o săptămână, a arătat o creștere procentului celulelor suspecte de blaști la 28%, foarte rare megacariocite de talie mică, uni sau bi- nucleate, cu trombocitopoeza incipientă. Celulele suspecte de blaști, cu diametru între 7-11 μm , prezentau aspect polimorf, unele cu citoplasmă bazofilă, cromatină relativ densă, urme de nucleoli, prelungiri citoplasmice. Imunofenotiparea s-a efectuat din MO, cu flowcitometru FacsScan, iar procedura de lucru folosită este "lyse - wash". Copilul nu a primit tratament înainte de recoltarea MO pentru efectuarea imunofenotipării. Combinații de anticorpi monoclonali utilizate au fost:

- CD3 (Becton Dickinson - BD, clona SK7), CD19 (BD, clona 4G7), CD45 (BD, clona 2D1);
- CD3 (BD, clona SK7), CD56 (Serotec, clona C5.9), CD45 (BD, clona 2D1);
- CD4 (BD, clona SK3), CD8 (BD, clona SK1), CD3 (BD, clona SK7);
- CD34 (BD, clona 8G12), CD19 (BD, clona 4G7), CD45 (BD, clona 2D1);
- CD10 (BD, clona W8E7), CD19 (BD, clona 4G7), CD45 (BD, clona 2D1);
- CD41 (Serotec, clona PM6/248), CD13 (BD, clona L138), CD45 (BD, clona 2D1);
- CD42a (Serotec, clona GRP-P), CD33 (BD, clona P.676), CD45 (BD, clona 2D1);
- CD64 (Serotec, clona 10.1), HLA-DR (BD, clona L243), CD45 (BD, clona 2D1);

S-a efectuat și analiza cariotipului din MO. S-au analizat 20 de metafaze din care 9 cariotipate: 2 cu hiperploidie, 2 cu trisomie 19 (cariotip 47XX+19), restul normale. Analiza cariotipului a exclus un sindrom Down.

Rezultate

La imunofenotipare s-au evidențiat 21% blaști (nivel scăzut de expresie a markerului CD45), iar analiza s-a făcut pe populația blastică (*Figura 1*).

Markerii CD13, CD33, CD34, CD19, CD10, CD64 au fost negativi. Markerul HLA-DR a prezentat expresie diminuată (*Figura 2*).

Markerii CD41 (GP IIb/IIIa) și CD42a (GP IX) au fost pozitivi (CD41 - 98,5%, CD42a - 98,9%) (*Figura 3 a, b*).

Așadar, populația analizată nu prezintă markerii comuni de linie limfoidă sau mieloidă. Pe baza rezultatului analizei imunofenotipice diagnosticul stabilit a fost LAM, subtipul FAB M7.

Discuții

LAM este rară la copii (15-20 % din to-

talul leucemiilor acute), iar subtipul FAB M7 este și el mai rar întâlnit⁴. Boala rămâne o provocare deoarece rezultatele tratamentului sunt mai puțin bune decât cele din leucemia acută limfoblastică a copilului, prognosticul fiind mai rezervat, cu atât mai mult cu cât este un subtip FAB cu risc la copil.

Studii recente⁶ au arătat o distribuție în funcție de vârstă a subtipurilor de LAM:

- subtipurile FAB M5, M7 sunt mai frecvente la copiii mici;
- subtipurile FAB M0, M1, M2, M3 apar mai frecvent la copiii mai mari.

În acest caz prima suspiciune a fost aceea de infecție virală, infirmată de determinările serologice. Având în vedere vârsta copilului, tabloul hematologic, aspectul celulelor atipice și rezultatul colorațiilor citochimice, diagnosticul probabil ar fi fost LAL 2, iar tratamentul unul incorect. Citometria în flux a clarificat diagnosticul (expresia intens pozitivă a markerilor CD41, CD42a) și a permis estimări prognostice. Expresia CD42 apare mai ales în formele mai diferențiate², ceea ce se poate asocia cu lipsa expresiei markerului CD34. Deși

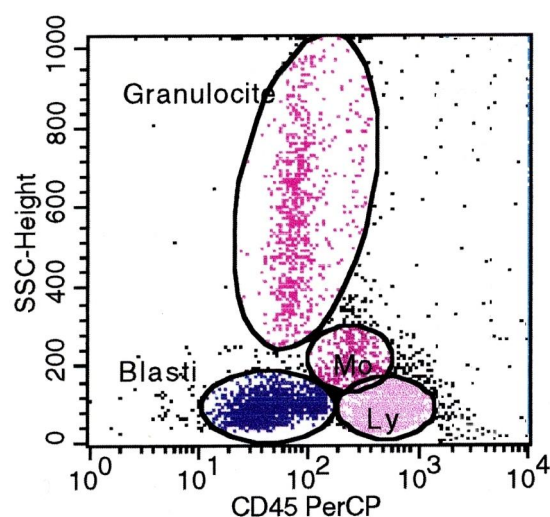


Figura 1. Imaginea de bază cu cele 4 gate-uri: pentru granulocite, limfocite (Ly), monocite (Mo) și celulele blastice.

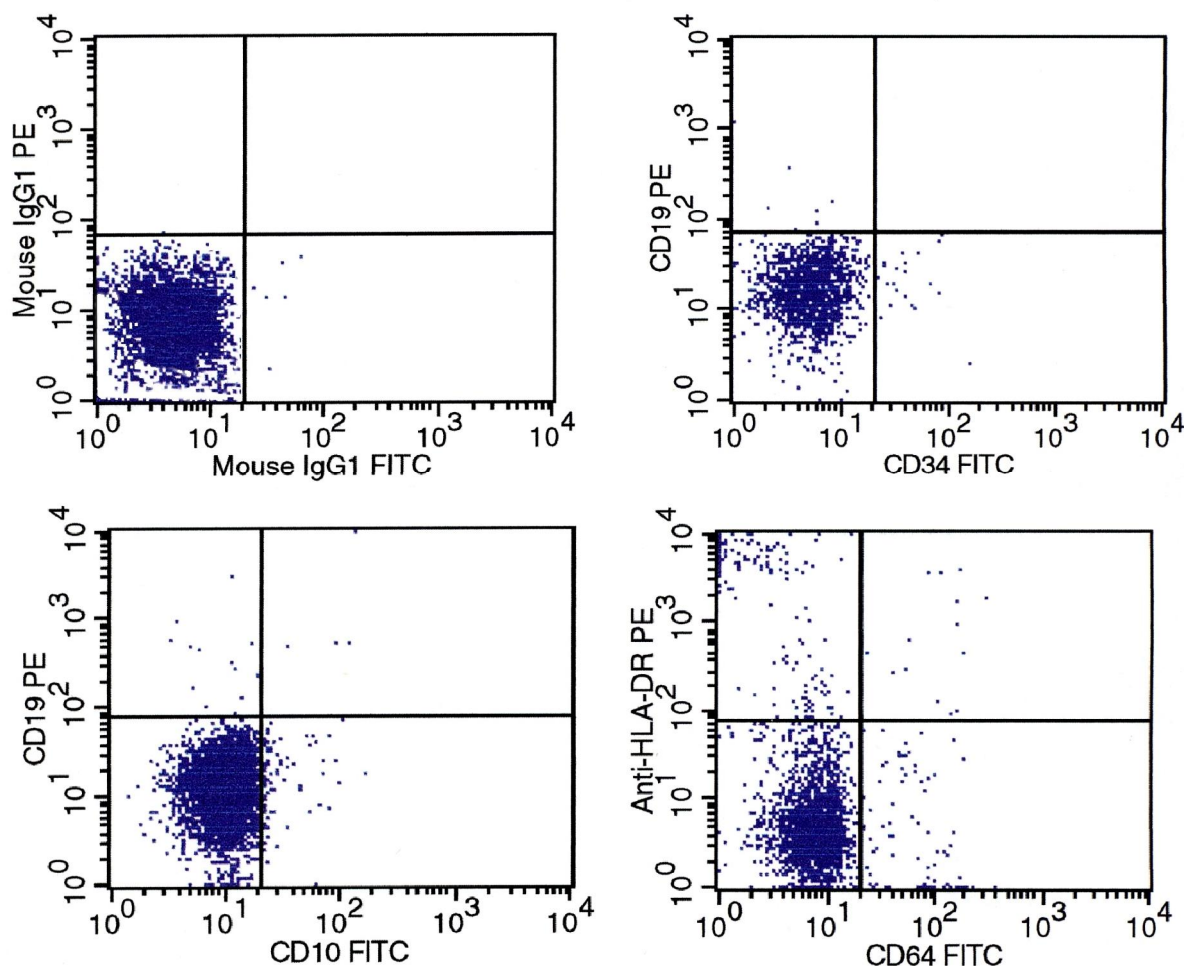
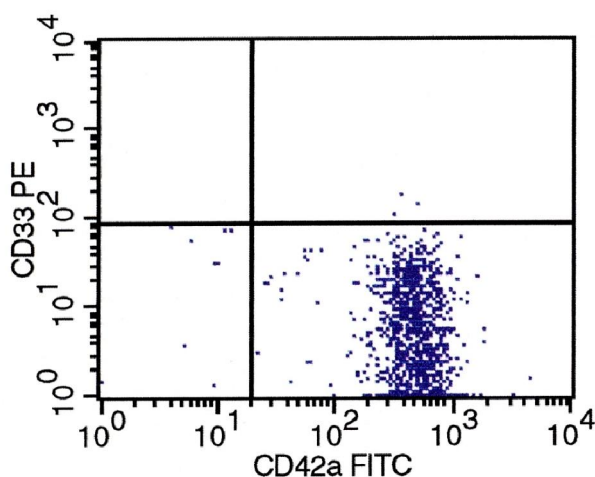


Figura 2. Expresia markerilor CD19, 34, 10, 64 și HLA-DR pe suprafața blasturilor.

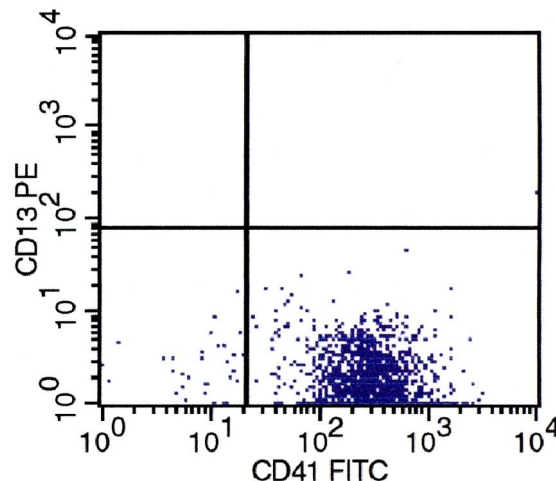
literatura⁷ menționează că expresia lui CD34 este de obicei pozitivă în M7, lipsa expresiei este o particularitate a cazului. M7 atunci când apare este de obicei în cadrul unui sindrom Down (SD). Copiii cu SD au un risc de a dezvolta LAM de 20-40 de ori mai mare, mai ales subtipul M7¹. Celulele blastice a 62 de copii cu M7 și boală mieloproliferativă (BM), cu și fără SD, au fost analizate prin citometrie în flux. Profilul imunofenotipic a fost diferit la copiii cu și fără SD: cei cu SD prezentau CD34 pozitiv în 93% din cazurile cu BM și doar 50% din cei cu LAM-M7¹, însă cei fără SD nu au prezentat

acest profil. Analiza cariotipului în acest caz a infirmat prezența unui sindrom Down, și a evidențiat prezența trisomiei 19. Un studiu prospectiv³ care include 834 de cazuri de copii cu leucemie acută de novo, din care 152 au fost cu LAM (18,2%), iar 29 cu LAM-M7, indică faptul că cea mai frecventă anomalie citogenetică a fost modificarea numărului de cromozomi (pierderea sau câștigarea unui cromozom - trisomie 21, monosomie7).

Alt studiu⁵ efectuat în perioada 1987-2002 a arătat că evoluția copiilor cu LAM după recurență este nefavorabilă, supraviețuirea la 5



3a.



3b.

Figura 3. a. Expresia intens pozitivă a markerului CD42a (GP IX) – 98,9 %; b. Expresia intens pozitivă a markerului CD 41 – 98,5 %

ani fiind estimată la 23,3% +/- 5,7%. Subtipurile morfologice M5 și M7 au fost semnificativ predictive pentru o supraviețuire mai scurtă, estimată după recurență. S-au realizat studii in vitro pentru testarea chimiorezistenței la copiii cu LAM⁸. Astfel a apărut ideea ca alegerea terapiei în LAM la copii în funcție de tipul morfologic și de testarea sensibilității la droguri poate să îmbunătățească prognosticul copiilor cu LAM.

Concluzii

Citometria în flux este obligatorie pentru stabilirea diagnosticului. Fără aplicarea acestei investigații diagnosticul ar fi fost probabil LAL2 (pe baza aspectului morfologic al blaștilor și a colorațiilor citochimice), iar tratamentul ar fi fost unul incorect. Prognosticul bolii este nefavorabil prin subtipul FAB – M7, prin vârsta de debut și răspunsul de obicei nefavorabil la tratament.

Bibliografie

1. Langebrake C., Creutzig U., Reinhardt D. - immunophenotype of Down syndrome Myeloid leukemia and transient myeloproliferative disease differs significantly from other disease with morphologically identical or similar blasts - *Klin Padiatr.*, 2005; 217(3): 126-34.
2. Munteanu N. Leucemiile acute – *Tratat de Medicină Internă – Hematologie*, sub redacția Radu Păun, București: Editura Medicală, 1999: 48-131.
3. Paredes-Aguilera R., Romero-Guzman L., Lopez-Santiago N. et al, *Biology - Clinical, and Hematologic Features of Acute Megakaryoblastic Leukemia in Children* – *Am. J. Hematol.*, 2003; 73: 71-80.
4. Ross M.E., Mahfouz R., Onciu M. et al - Gene expression profiling of pediatric acute myelogenous leukemia – *Blood*, 2004; 104: 3679-3687.
5. Rubnitz J.E., Razzouk B.I., Lensing S. Et al - Prognostic factors and outcome of recurrence in childhood acute myeloid leukemia - *Cancer*, 2007; 109(1): 157-63.
6. Webb D.K., Harrison G., Stevens R.F. et al - Relationships between age at diagnosis, clinical features, and outcome of therapy in children treated in the Medical Research Council AML 10 and 12 trials for acute myeloid leukemia – *Blood*, 2001; 98(6): 1714-20.
7. Williams Hematology, Sixth Edition, Mc Graw-

Hill, Medical Publishing Division, 2001

8. Yamata S., Hongo T., Okada S. et al - Clinical relevance of in vitro chemoresistance in childhood

acute myeloid leukemia - *Leukemia*, 2001; 15(12): 1892-7.